

# シロイヌナズナの生殖過程における細胞壁関連遺伝子群の機能に関する研究

著者	倉澤 香澄
号	6
学位授与番号	150
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/44056">http://hdl.handle.net/10097/44056</a>

くらさわ かすみ

氏名（本籍地）	倉澤香澄（栃木県）
学位の種類	博士（生命科学）
学位記番号	生博第150号
学位授与年月日	平成21年 3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科，専攻	東北大学大学院生命科学研究科 （博士課程）生命機能科学専攻
論文題目	シロイヌナズナの生殖過程における細胞壁関連遺伝子群の機能に関する研究
博士論文審査委員	（主査）教授 西谷和彦 教授 高橋秀幸 教授 渡辺正夫 講師 横山隆亮

## 論文内容の要旨

植物の器官を構成する各細胞には、それぞれ固有の細胞壁が構築されている。各器官が、発生段階に従って独自の形を形成していき、器官特有の機能を果たすためには、個々の細胞を取り囲む多様な細胞壁の構築や再編などの構造変化が必要であると考えられる。しかし、細胞壁は、複雑で動的な構造であるため、その構築・再編メカニズムは未だ解明されていない。

細胞壁の構築・再編において重要な細胞壁関連遺伝子群のひとつに、キシログルカン転移酵素/加水分解酵素 (XTH) がある。細胞壁の基本骨格は、結晶性セルロース微繊維がキシログルカン分子により架橋された網状の構造である。結晶性セルロース微繊維は化学的に安定であるため、細胞壁の再編成にはキシログルカン分子の構造変化が重要であると考えられる。XTH は、キシログルカン分子の繋ぎ換えや切断を触媒する酵素であることから、細胞壁の構造変化に重要な役割を果たすものと考えられている。シロイヌナズナの XTH をコードする遺伝子は 33 のメンバーから成る遺伝子ファミリーを形成しており、その推定アミノ酸配列を基にした系統解析によって、3 つのクラスに分類される。これまでの XTH の酵素活性の特性の研究から、クラス I と II に属する XTH は、キシログルカン分子の転移反応を触媒し、クラス III の XTH は、キシログルカン分子の転移反応もしくは加水分解反応を触媒することが明らかになっている。各 XTH の酵素特性の研究が進む一方で、XTH の植物体内における役割はほとんど明らかにされていない。特にクラス III の XTH 遺伝子群は、種子植物固有の器官で機能するために派生してきたグループであると示唆されているが、そのような器官における具体的な XTH の役割は、ほとんど解明されていない。そこで、本研究では、クラス III の XTH 遺伝子 (*XTH27*, *-28*, *-29*, *-30*, *-31*, *-32*, *-33*) に着目して、種子植物固有の器官における XTH の機能解明を目指した。

植物体における各 XTH の働きを明らかにするため、それぞれの T-DNA 挿入突然変異体、二重突然変異体について形態解析を行った。さらに各遺伝子の発現パターンを明らかにするために、プロモーター::GUS 形質転換体を用いた発現解析も行った。遺伝子の発現解析の結果、クラス III の各メンバーが、それぞれ独自の発現プロファイルを有することが明らかになった。特に、種子植物固有の器官である花や種子で特異的な発現パターンを示す XTH 遺伝子が多数存在したことは、クラス III の XTH 遺伝子が、種子植物に固有の花や種子等の器官において、特別な役割を果たしていることを支持する結果であった。また突然変異体の解析結果から、*xth30/xth31* では種子発芽が早くなる形質が明らかになり、*XTH30* と *XTH31* は、種子が適切なタイミングで発芽するために重要な役割を担っていることが示された。

*XTH28* 遺伝子の欠損した T-DNA 突然変異体の花茎基部では、種子が稔らず、果実が発達しないという形質を示した。*xth28* 変異体の基部側の花では、柱頭に花粉が付いていないことから (図 1)、稔性が低下する原因は、自動自家受粉ができないためであることが明らかになった。*xth28* 変異体の花器官について、受粉過程に焦点を絞り経時的に解析した結果、雄蕊の発達に異常があることが示された。自動自家受粉ができない原因として 1) 受粉時期に花糸が適切に伸長していないこと (図 2)、2) 雄蕊と雌蕊の角度が広いこと (図 3A)、3) 葯の裂開

面が柱頭に向いていないこと (図 3B)、が明らかになった。以上の 3 つの原因によって、*xth28* 変異体では、葯と柱頭の空間的な位置が離れ、自動自家受粉ができないことを証明した。こうして *XTH28* 遺伝子は雄蕊の発達過程で細胞壁の構造変化に機能し、自家受粉能力において重要な役割を担うものと考えられた。また、*XTH28* 遺伝子と進化的に最も近縁な *XTH27* 遺伝子の二重突然変異体 (*xth27/xth28*) において、*xth28* 変異体の表現型は強くならないことが明らかになった。この結果より、果実の形成においては、*XTH28* 遺伝子が中心的な役割を担い、他の *XTH* 遺伝子とは機能的に冗長性のないことが明らかになった。

本研究により、*XTH28* による細胞壁の構造変化は、雄蕊が適切に発達し、正常に機能するために必須であることを明らかにした。この研究成果は、雄蕊と雌蕊の発達するタイミングが緻密に制御されている自家受粉のメカニズムにおいて、子孫を残すか否かを左右する重要な役割を担う細胞壁関連遺伝子の最初の発見となった。

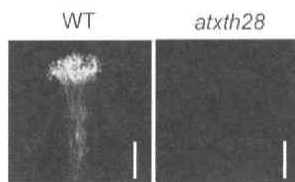


図1. 柱頭の花粉の有無

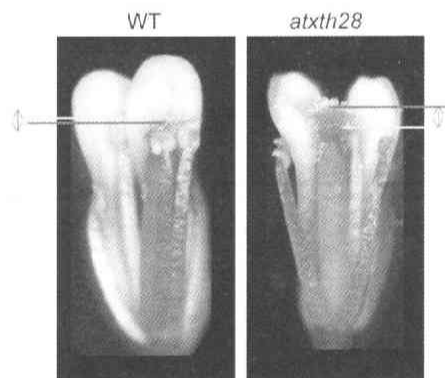


図2. 受粉時期の雄蕊の伸長

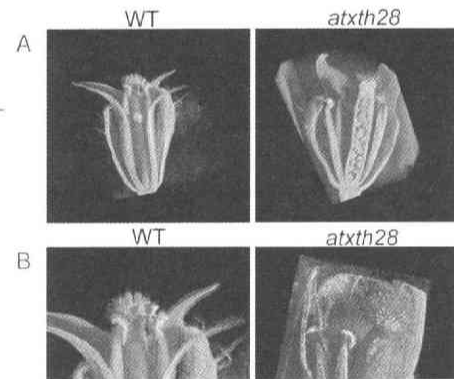


図3. 雄蕊の角度 (A)、葯の向き (B)

直接関連した論文：

Kurasawa K., Matsui A., Yokoyama R., Kuriyama T., Yoshizumi T., Matsui M., Suwabe K., Watanabe M. and Nishitani K. (2009) The *AtXTH28* gene, a xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase, is involved in automatic self-pollination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.*

植物の形態形成や細胞機能は細胞壁の構築・再編過程を通して発揮される。植物細胞壁は、多数の高分子よりなる超分子で、その構造は細胞型毎に異なるだけでなく、細胞分化の段階を通じて常に変化し続ける。ゲノム情報およびプロテオーム解析の結果より、その構築・再編には数千の細胞壁関連遺伝子群が関与すると推定されているが、個々の遺伝子の機能については多く未解明であり、細胞壁の構築・再編の分子過程やそれを通じた細胞壁機能は、今尚未解明で、今後解明されるべき重要な課題である。

エンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素 (XTH) は細胞壁の構築・再編において中心的な役割を担うタンパク質ファミリーである。XTH をコードする遺伝子は、シロイヌナズナでは 33 のメンバーからなる遺伝子ファミリーを形成し、推定アミノ酸配列より Class I, II, III の三つのサブファミリーに分類される。その内クラス III 遺伝子は種子植物に特徴的なサブファミリーであることから、種子植物固有の機能を担う可能性が考えられている。シロイヌナズナにはクラス III に属する 7 遺伝子 (*AtXTH27, 28, 29, 30, 31, 32, 31*) が同定されているが、*AtXTH27* 以外については、それらの機能は未解明である。本研究では、種子植物固有の過程である生殖過程における細胞壁遺伝子群の機能解明を目指し、この 7 遺伝子に着目し、各遺伝子を欠損した T-DNA 挿入変異体および、その二重突然変異体のラインを整備し、それらの変異体について表現型を解析している。その結果、*AtXTH28* を欠損した変異体 *atxth28* では花茎の基部の花が不稔となること、*AtXTH30* と *31* を共に欠損した二重変異体 *atxth30/atxth31* では種子発芽が早まることを明らかにした。

次に、*atxth28* 変異体由来の花粉と雌蕊との間では人工授粉を行うことにより稔性が回復することを明らかにし、稔性低下の原因が受粉過程にあると推定した。その仮説を実証するために、雄蕊や雌蕊の発達過程に焦点を当てて、受粉過程を解析した。その結果、*atxth28* では、受粉時期に花糸が適切に伸長しないこと、雄蕊と雌蕊の角度が広くなること、葯の裂開面が柱頭に面しないことを明らかにし、雄蕊の発達不全が自動的自家受粉の不全を招き、稔性低下を引き起こすことを突きとめた。この研究成果は、XTH28 による細胞壁の構築・再編過程が雌蕊の正常な発達を通して、シロイヌナズナの稔性に寄与していることを実証した点で重要な発見である。また、本研究成果は、雄蕊の発達過程が自動的自家受粉の成否に直接関わる事を示した点でも、自家受粉における細胞壁機能の重要性を示す知見であり、今後、当該分野の研究の発展に寄与する成果である。

これらの研究は、著者が自立して研究活動を行うに必要な研究能力と学識を有することを示している。よって倉澤香澄提出の論文は、博士（生命）の学位論文として合格と認める。